

Dott. Carlo Maglio

Istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Milano

ESPERIENZE DI RIGENERAZIONE NEI TELEOSTEI

Le esperienze di cui brevemente riferisco furono da me iniziate fin dal 1914-1915 nell'Istituto di Anatomia Comparata della R. Università di Pavia (1). Esse riguardano da un lato lo studio puramente morfologico della rigenerazione delle pinne e di altre parti del corpo in diverse specie di teleostei nostrali, dall'altro lo studio istologico del processo rigenerativo della estremità posteriore del tronco della ceca. A proposito di questo ultimo, mi limito ora a una sommaria esposizione di quanto ho potuto osservare, impiegando i metodi generali di tecnica microscopica, sulla rigenerazione in particolar modo della colonna vertebrale, della corda dorsale e del midollo spinale, riserbandomi al termine di esperienze tuttora in corso, quando anche avrò potuto utilizzare per il mio esame i metodi speciali di tecnica del sistema nervoso, di integrare la presente nota e corredarla delle necessarie figure.

1. Potere rigenerativo delle pinne.

Copiosi dati sperimentali provano da un lato in modo indubbio la facoltà di rigenerazione delle pinne, consentono d'altra parte di attribuire probabile origine rigenerativa a buon numero di anomalie presentate da questi organi in natura (pinne doppie, pinne ipertrofiche, ecc.) (2).

(1) diretto allora dal Chiariss. Prof. A. Giardina.

(2) Mi è parso inutile ricordare le numerose pubblicazioni che illustrano casi di anomalie delle pinne ascritte a rigenerazione. Si possono trovare in gran parte in: *Przibram H. Experimental-Zoologie, Leipzig u. Wien, 1909.*

Già fin dalle più antiche esperienze di Broussonet (1), accolte per qualche tempo non senza incredulità (1), accanto alla constatazione generale del fenomeno troviamo affermata, in forma a dir vero talvolta incerta (2), l'influenza svolta sul suo andamento da diversi fattori, di alcuni de' quali venne poi dagli studiosi in tempi più recenti meglio precisata l'azione.

Influenza della natura della lesione.

a) ablazione completa di una pinna.

È di particolare importanza l'osservazione di Broussonet che il taglio delle pinne rasente al corpo rende lentissimo il processo rigenerativo e che l'asportazione completa dei raggi lo impedisce del tutto. Egli aveva amputato parecchi pesci della pinna dorsale e insieme di una parte del dorso e visto formarsi al loro posto una semplice sutura.

Broussonet avrebbe anche, secondo l'autorevole testimonianza di P. Bert (4), compiuto un'altra operazione, mutilato cioè giovani ciprini della coda in modo da togliere loro oltre alla pinna qualche vertebra, senza osservare, pur avendoli conservati vivi a lungo, parte alcuna di nuova formazione (8). Pochi anni dopo Bert, Philipeaux (5) dimostrava sperimentalmente che la pinna addominale in *Gobio* presenta rigenerazione completa dopo 8 mesi se recisa a livello della parete addominale, mentre se essa viene completamente estirpata (con tutta la sua parte basale), trascorso lo stesso intervallo dall'operazione, si osserva negli esemplari sopravvissuti cicatrizzazione perfetta ma neppure il minimo indice di rigenerazione. Basandosi su queste e su altre sue precedenti esperienze sugli anfibi e sui mammiferi, egli ammise come legge generale, almeno nei

(1) H. MILNE EDWARDS, *Leçons sur la Physiologie* ecc. VIII. (1863), p. 301, nota 2. « Broussonet dit avoir vu la nageoire d'un Poisson se reproduire, mais Dugès a répété cette expérience sans succès ».

(2) « J'ai coupé, à plusieurs poissons, des portions de leurs différentes nageoires; j'ai répété ces expériences à diverses époques et j'ai toujours vu ces parties se reproduire peu à peu: il m'a paru seulement qu'elles repousoient plus vite dans les poissons les plus jeunes, et dans quelques espèces plutôt que dans d'autres. BROUSSONET, nota citata.

(3) P. Bert non indica la memoria originale, a me sconosciuta, in cui è riferita l'esperienza di Broussonet, pur confermandone i risultati: « Ces résultats ont été confirmés depuis par tous les expérimentateurs, et j'ai eu maintes occasions d'en constater l'exactitude ». BERT, Pubbl. citata.

Vertebrati, che un organo completamente asportato in niun caso rigeneri, che quindi anche la rigenerazione di una pinna sia possibile solamente se una parte di essa venga lasciata *in situ*. Va però osservato che l'estendere senz'altro a tutte le pinne i risultati ottenuti operando su una fra esse non appare giustificato quando si considerino le differenze anatomiche che intercedono fra pinne pari ed impari, fra pettorali e ventrali, fra codale e dorsale o anale. Mentre l'estirpazione completa di una pinna addominale, con tutta la sua parte basale, (e similmente di una dorsale o anale) significa l'asportazione dell'intero scheletro dell'arto, lo stesso non può dirsi delle pettorali; inoltre l'ablazione completa di una pettorale o anche della codale non implica necessariamente la estirpazione (esarticolazione) della pinna, potendo anche conseguire a recisione di ossa del cinto scapolare o di elementi scheletrici assiali (se si tratta della codale), e a seconda che si verifichi l'un caso o l'altro le condizioni dell'esperienza non si equivalgono. Non mi consta che nella letteratura sia fatta menzione di altre esperienze di estirpazione di pinne; solamente Barfurth ricorda accidentalmente ⁽¹⁾ di aver estirpato a giovani trote pezzi di pinna codale ottenendo la semplice rimarginazione della ferita. Io non feci in proposito che qualche esperienza isolata. A 4 giovanissimi esemplari di *Squalius cavedanus* (lunghezza cm. 2,6-2,8) estirpai con lenta trazione la intera pettorale destra o sinistra; dopo 6 mesi uno solo di essi aveva rigenerato, in direzione anomala (leggermente obliqua all'innanzi), una pinna filiforme. Non posso però escludere con tutta certezza che anziché disarticolazione possa esserci stata frattura, anche lieve, di qualche porzione dello scheletro interno della pinna o di quello del cinto. In questo dubbio mi conferma il fatto che singoli raggi di pinna dorsale da me estirpati (esarticolati) ⁽²⁾ in *Tinca vulgaris* e in *Cobitis taenia* non presentarono dopo 5 mesi traccia di rigenerazione, almeno all'esterno. Non conosco pertanto nei pesci esempio certo di rigenerazione sia d'una intera pinna sia di alcuni dei suoi raggi esterni dopo

(1) *Ergebn. d. Anat. u. Entwickl.* vol. I, pag. 125.

(2) Nel caso dei raggi esterni della pinna è molto facile assicurarsi coll'esame microscopico a moderato ingrandimento se c'è stata vera disarticolazione o rottura anche a motivo della configurazione caratteristica del loro estremo prossimale.

vera disarticolazione, mentre negli anfibî venne ottenuta la rigenerazione di ossa esarticolate degli arti (1).

A due altri giovani individui di *Squalius cavedanus*, lunghi cm. 3,3 e cm. 3,5 asportai colle forbici una delle due pettorali. Il primo di essi rigenerò dopo 6 mesi una piccola pinna pettorale sostenuta da scarsi raggi; poichè il taglio venne operato a livello dei pterigiofori, se anche non in parte più prossimale dello scheletro interno della pinna, l'esperienza prova che per la rigenerazione della pettorale non è indispensabile, almeno in individui ancor giovani, lasciare *in situ* i mozziconi dei raggi esterni ma che esso può effettuarsi da elementi dello scheletro interno della pinna. Nel secondo esemplare che subì una lesione assai più profonda (lo strappamento aveva messo a nudo una piccola porzione di superficie peritoneale), trascorso lo stesso periodo di tempo osservai completa rimarginazione della ferita ma nessun accenno esteriore di processo rigenerativo.

Che invece la pinna codale possa, anche in pesci adulti, rigenerare dopo completa ablazione è dimostrato in modo indubbio dalle esperienze di Duncker (18, 19) sui Singnatidi, accanto alle quali posso ricordare alcune mie personali.

Nell'intento di studiare il potere rigenerativo della parte posteriore del tronco nei pesci io aveva amputato di diverse porzioni di coda numerosi esemplari di cieche d'anguilla, parecchi giovani di *Squalius cavedanus* e anche alcuni adulti di *Cobitis taenia*. Nelle cieche (7-10 cm.) veniva amputato l'apice codale di un tratto eguale in media a $\frac{1}{10}$ della lunghezza totale del corpo (in qualche caso di un tratto notevolmente superiore a $\frac{1}{10}$; p. es. 9-10 mm. per una lungh. totale di 65 mm.). Le cieche tollerano benissimo la mutilazione, e rigenerano costantemente una nuova pinna codale. Per ciò appunto le scelsi per lo studio istologico del processo rigenerativo. Assai diverso il comportamento dei giovani cavedani (2-4 cm.). Alcuni di questi vennero privati soltanto di una parte esigua della regione codale del tronco, 1 mm. o poco più, altri di una porzione assai maggiore, fin 4 mm. (pinna esclusa); in molti il taglio veniva a cadere circa a livello del margine posteriore della pinna

(1) C. V. MORRIL. Some experiments on regeneration after exarticulation in *Diemyctylus viridescens*. *Journ. Exper. Zoölogy*, XXV, 1918, p. 107-126. tav. 1-3, fig. 1-10.

anale. Nei casi più gravi i pesciolini, se non soccombevano all'emorragia, duravano generalmente in vita pochi giorni nè più riusciva loro di mantenere l'equilibrio normale; si disponevano col capo in basso e conservavano la posizione verticale fino alla morte. Nei casi meno gravi si adattavano alle nuove condizioni di equilibrio, ma subentrava gradatamente nella parte rimasta di coda un incurvamento verso l'alto, che in alcuni divenne pronunciatissimo. In nessuno degli animali operati notai traccia di rigenerazione della coda, anzi in generale una retrazione dei tessuti molli, in prima linea della pelle, dalla superficie di taglio, che mentre impediva il rimarginarsi della ferita apriva la porta a svariati parassiti; soltanto in pochi casi, alla distanza di 6-7 mesi, lesione completamente rimarginata e rivestita di cute d'apparenza normale. (I medesimi esemplari dimostrarono rigenerazione rapidissima dei lembi di pinna recisi per contrassegno).

Invece in 2 grosse *Cobitis* (lung. 9,2; 9,7 cm.), cui oltre la pinna codale erano stati tolti circa 2 mm. di tronco, osservai dopo quasi 8 mesi rigenerazione della codale. Nell'una la pinna neoformata appariva di dimensioni ridottissime, sorretta da raggi aberranti per direzione e provvista di un'unica fascia trasversale di macchiettine nere presso la base; nell'altra pur avendo preso origine in grande prevalenza dal tratto mediano della superficie amputata offriva caratteri quasi normali. Non dunque nel solo gruppo dei Singnatidi ma anche in altre specie di Teleostei è possibile negli adulti la rigenerazione della pinna codale malgrado la sua ablazione completa.

Nota che in natura si conoscono casi di neoformazione di pinna codale seguita ad amputazione ben più profonda del tronco (lucchi mostruosi di Tiedemann (2), di Hofer (9) ecc.), ma con tutta verosimiglianza le lesioni che dettero origine al processo rigenerativo si devono allora far risalire a un'età molto più giovanile del pesce.

b) recisione di una pinna rasente al tronco.

Dopo Broussonet, dobbiamo a Morrill (16) e soprattutto a Beigel (20) osservazioni più precise sulla rigenerazione di una pinna recisa alla radice. Secondo Beigel la rigenerazione della pinna, che è ancora completa se si lasciano mozziconi dei raggi esterni di 0,5-1 mm., diventa incompleta, se la pinna è recisa fin proprio dalla base, e straordinariamente tardiva (perfino

dopo 6-8 mesi appena un principio di rigenerazione). Io recisi la pinna dorsale rasente al tronco in numerosi esemplari di *Tinca vulgaris* (lunghezza 6-10 cm.), *Cobitis taenia* (6,5-7,5 cm.), *Pomotis aureus* (5-7 cm.). Nelle prime due specie constatai un fortissimo rallentamento del processo rigenerativo; nella maggioranza dei casi, dopo 3-4 mesi, ancora nessun indizio esterno di rigenerazione, ma ferita ricoperta da cute di apparenza normale, eccettuate talvolta piccole aree, sovrastanti a mozziconi di raggi, distinte da tessuto di ricoprimento incolore (focolai rigenerativi?). In *Pomotis aureus* osservai rigenerazione assai lenta della parte anteriore della pinna, sorretta da una diecina di raggi semplici e spinosi, rigenerazione più rapida della regione posteriore che possiede 12-13 raggi divisi e articolati. Se però nel corso di tutte queste esperienze constatai in genere, d'accordo colla Beigel, un forte rallentamento del processo rigenerativo e, spesso, rigenerazione incompleta, un'altro fatto mi è parso meritevole di rilievo ed è che esemplari tutti di una specie, all'incirca delle stesse dimensioni, similmente operati e tenuti poi nelle medesime condizioni ambientali, possono presentare differenze ragguardevolissime di comportamento, particolarmente in merito all'inizio esternamente visibile del processo rigenerativo, mentre quando l'amputazione della pinna non rasenta il tronco, serie anche numerosissime, purchè omogenee, d'individui presentano un comportamento uniforme. Tale fatto, di cui non è facile accertare le cause in mancanza d'esame istologico (1), può trarre in inganno lo sperimentatore, specie quando sia esiguo il numero degli animali operati e non sufficientemente protratto il termine della osservazione. Ad esso ritengo di dover attribuire certi casi di apparente mancata rigenerazione, come quelli su cui Bogacki (15) basò la sua affermazione di un maggior potere rigenerativo della codale in confronto delle altre pinne.

c) *tagli normali alla direzione dei raggi della pinna e tagli obliqui.*

Nei tagli obliqui mi fu facile verificare, come constatò per primo Morgan (7), che la direzione delle porzioni rigenerate

(1) Si può pensare a una maggiore o minore rapidità di coalescenza dei margini della cute del dorso, in dipendenza di piccole differenze della lesione inferta ai diversi individui.

dei raggi obbedisce, con qualche rara eccezione, alla così detta legge di Barfurth. Il fatto si ripete anche nei tagli trasversali della pinna codale, i cui raggi divergendo più o meno spiccatamente a ventaglio sono, ad eccezione dei mediani, obliqui in misura maggiore o minore rispetto al piano di sezione. Nella rigenerazione di pinna codale di *Cobitis taenia* e di *Alburnus alburnella* tagliata trasversalmente notai anche che i raggi estremi rigenerano molto lentamente in cfr. dei mediani⁽¹⁾ e talvolta in modo incompleto. In un'alborella di circa 7 cm. di lunghezza, dopo 8 mesi, il terzultimo raggio ventrale [i due primi non vennero colpiti dal taglio], articolato nella pinna normale, non aveva rigenerato che un sottile e corto aculeo.

Potrebbe però questo rappresentare una fase passeggera del processo rigenerativo se, come afferma Souvoroff (13), il raggio neofornato si abbozza dapprima in forma di striscia ossea continua e soltanto più tardi per effetto di riassorbimento dell'osso si determina la distinzione nei singoli articoli. Tanto nella rigenerazione delle pinne da sezioni trasversali che da sezioni oblique ho potuto agevolmente seguire il processo di regolazione che porta all'acquisto della forma specifica e venne illustrato da Morgan prima e dopo lui da diversi autori.

Influenza dell'età.

Se indubbiamente gli avannotti che non hanno ancora completamente riassorbita la vescicola vitellina posseggono facoltà rigenerative incomparabilmente più elevate degli adulti⁽²⁾, è assai probabile che più tardi l'influenza dell'età si traduca solamente in una accelerazione o in un rallentamento del processo rigenerativo⁽³⁾.

In questa forma essa venne, a riguardo delle pinne, ammessa già (per quanto, come s'è visto, in modo dubitativo) da Broussonet e riconosciuta in generale dai diversi autori (Scott, Beigel, Polimanti, Berzolari, Supino, Fadda). Pur non avendo istituito particolari esperienze, possibili solo negli allevamenti

(1) Anche Fadda (29) in *Cyprinodon calaritanus* trovò dopo circa 4 mesi più avanzata la rigenerazione dei raggi centrali.

(2) Ce lo provano le esperienze di Bert (4), Nusbaum e Sidoriak (8), Nusbaum (11) ecc.

(3) Tuttavia secondo Beigel (25) la rigenerazione dei cirri orali di *Amiurus nebulosus* può mancare negli individui anziani (lunghi 10-12 cm.).

o quando l'età si riveli coll'osservazione delle squame, ebbi occasione più di una volta di notare l'influenza dell'età. Così ad es. in individui di *Cobitis taenia* della lunghezza di circa 5 cm. la rigenerazione della pinna codale recisa trasversalmente in prossimità della base si effettuò quasi completa in 6-7 mesi, comprendenti la stagione invernale; la parte neoformata, di ampiezza quasi corrispondente a quella della porzione recisa, circa 5 mm., appariva normale per numero sia di raggi sia di serie trasversali di macchiette. In adulti di circa 9 cm. di lunghezza la zona di pinna rigenerata durante il medesimo periodo di tempo raggiungeva tutt'al più i due terzi in ampiezza della porzione tolta e non presentava che un paio di fascie trasversali di macchie al posto delle quattro o più esistenti nella parte amputata.

In giovanissimi cavedani (circa 2 cm.), amputati per contrassegno di piccola porzione dell'una o dell'altra pinna, era già ben visibile dopo due giorni un sottile orlo a festoni di tessuto rigenerato.

Influenza della specie.

La facoltà nei pesci di rigenerare la pinna codale, quando venga amputato il tronco dopo il completo riassorbimento della vescicola del tuorlo, è, per quanto mi consta, propria soltanto di poche specie [*Singnatidi*, *Cobitis*, *Anguilla* (ceca)], mentre certo tutte possono riparare a lesioni della codale come in genere di ogni altra pinna. Nessuna meraviglia però che nelle diverse specie, in dipendenza sia dei caratteri strutturali sia del particolare adattamento di ciascuna alle condizioni di vita, il processo rigenerativo presenti velocità diverse, e il fatto venne, come si disse, notato già da Broussonet.

Esperienze intese a precisare quest'influenza della specie sul ritmo della rigenerazione non sono facili perchè richiedono serie comprendenti esemplari numerosi e a un tempo comparabili tra loro particolarmente in riguardo all'età (oltrechè similmente operati e mantenuti nelle medesime condizioni ambientali). Così nei risultati della Beigel (20) non è agevole scindere la parte che nel determinare la diversa velocità della rigenerazione della codale in *Salmo*, *Tinca*, *Cobitis*, *Amiurus* è dovuta all'influenza specifica da quella spettante al fattore età.

Io posso portare in proposito solamente il modestissimo contributo di un'esperienza compiuta in condizioni abbastanza buone, se si prescinde dal numero esiguo di individui impiegati. Scelsi cioè per il paragone esemplari adulti di *Tinca vulgaris* (circa 30 cm. di lungh.) di *Carassius auratus* (circa 25 cm. lungh.), di *Scardinius erythrophthalmus* (circa 22 cm.), *Alburnus albonella* (circa 9 cm.), 2 es. per ciascuna specie. Tutti ebbero la pinna codale recisa con un taglio trasversale (normale all'asse longitudinale) a $\frac{1}{4}$ di lunghezza dalla base e rimasero poi nel medesimo acquario per la durata di 8 mesi, (da metà novembre a metà luglio). Al termine dell'esperienza, misurata in ciascun esemplare l'ampiezza della zona rigenerata (diametro massimo antero-posteriore) e riferita a quella della zona asportata risultò in vantaggio di ambedue gli individui di *Alburnus* un notevolissimo distacco su quelli delle altre tre specie, che non presentarono tra loro differenze così spiccate da potersi prendere in considerazione, dato l'esiguo numero di individui operati. Non possiedo dati sulla minuta struttura delle pinne di *Alburnus*; tenendo però conto che anche in *Cobitis*, come osservai in una serie di adulti operati pure in novembre per saggiare la influenza dell'età, la rigenerazione della codale è di poco meno rapida che in *Alburnus* pur essendo la struttura della pinna assai complessa per numero e qualità di ghiandole (Beigel), non appare improbabile il fatto di una rigenerazione più rapida nelle piccole specie rispetto a quelle di maggiori dimensioni.

Pigmentazione del rigenerato.

Nel corso della precedente esperienza mi occorre di osservare un caso di rigenerato melanico, ricordato anche da Souvoroff (13) (1).

Nei due individui di *Carassius auratus* allora operati della codale, che erano di colore arancione con orlo delle pinne biancastro o semincoloro, la porzione neoformata della pinna (dopo 8 mesi) appariva nera ad occhio (ricordo, nota Souvoroff,

(1) « Merkwürdig ist dass das Regenerat bei *Carassius auratus* nach und nach von der weissen Färbung zu dem dunkelpigmentierten Stadium übergeht, was an die postembryonale provisorische Färbung dieses Fischchens erinnert » p. 79 pubblicaz. citata.

della tinta bruna dei giovani avannotti) e all'esame microscopico presentava esclusivamente melanofori, alcuni astriformi, altri con lunghe, minutissime ramificazioni anastomizzate in fitta rete.

Se un caso di melanismo così spiccato può apparire di eccezione, credo invece un fatto generale nei rigenerati di pinne la comparsa molto più tardiva dei pigmenti gialli in confronto dei melauici. Lo constatai, ogniqualvolta ricorsi all'esame microscopico, in *Cobitis*, *Tinca*, *Scardinius Alburnus*. Spesso dopo parecchi mesi i lipofori mancano ancora del tutto o sono scarsissimi mentre i melanofori possono apparire anche più fitti o di maggiori dimensioni che nella pinna normale. (*Alburnus*, *Scardinius*). Se anche nelle specie succitate durante lo sviluppo normale i pigmenti melanici si formino prima dei gialli, come in *Carassius auratus* (1), e si debba quindi ravvisare nel processo rigenerativo un ripetersi di condizioni del processo ontogenetico, non posso dire, mancandomi dati in proposito.

2. Rigenerazione delle squame e dei barbigli.

La rigenerazione delle squame fu oggetto di osservazione e di studio da parte di diversi autori (Morril, Beigel, Scott, ecc.). In *Scardinius* constatai la rigenerazione delle squame del fianco comprese quelle della linea laterale, estirpate colla pinza, dopo circa 8 mesi.

Anche la rigenerazione dei cirri boccali venne studiata sperimentalmente da Beigel nell'*Amiurus nebulosus* (25). L'autrice per dimostrare che la direzione del rigenerato è influenzata dalla simmetria strutturale del cirro compì anche esperienze in *Cobitis taenia*, che essa ricorda però solamente di sfuggita, senza entrare in particolari. In individui di questa specie della lung. di 7-8 cm. io recisi alla base i cirri del paio inferiore, cioè i maggiori (lunghi circa 3 mm.); dopo 6 mesi (semestre invernale) i cirri rigenerati non differivano dai normali (all'ispezione esterna) che per una tinta più pallida e per essere alquanto più corti, raggiungendo a un dipresso la lunghezza di quelli del paio medio. In un esemplare in cui il cirro di un lato venne asportato insieme a un pezzetto di labbro mancava dopo 6 mesi ogni traccia di rigenerazione (2).

(1) cfr. ARCANGELI A. *Il ciprino dorato*. U. Hoepli, 1926.

(2) Beigel notò in *Amiurus nebulosus* che i cirri rigenerano se vengono tagliati in modo che ne rimangano brevi mozziconi (di 0,5-1 mm.).

Occorre non di rado di osservare in natura nelle nostre *Cobitis* casi di barbigli biforcati dalla base ed è a credere che si tratti allora il più spesso di anomalie di natura rigenerativa. Barbigli perfino tripartiti ottenne Lo Giudice (28) durante esperimenti di rigenerazione in *Barbus plebejus*.

3. Rigenerazione della « palettina » del maschio di *Cobitis taenia* (carattere sessuale secondario).

I maschi di *Cobitis taenia* si riconoscono agevolmente all'esame delle pinne pettorali. Dei 10 raggi che le sostengono il secondo (numerando dall'esterno) presenta il suo semiraggio ventrale notevolmente ingrossato e l'articolo di base del semiraggio dorsale espanso lateralmente in una caratteristica paletta ossea (1), visibilissima ad occhio anche per la pigmentazione della cute che la riveste. In un individuo di quasi 7 cm. asportai la intera paletta con un taglio passante per il suo colletto o strozzatura. In meno di tre mesi (dal marzo al giugno) rigenerò una palettina di apparenza normale ma di dimensioni ancora assai ridotte. È questo, per quanto mi consta, l'unico caso finora noto nei pesci di rigenerazione di un carattere sessuale secondario.

4. Potere rigenerativo della parte posteriore del tronco nella ceca.

Il potere rigenerativo dell'estremità codale del tronco nei pesci, già ammesso da Malm (3) in base alla osservazione di una pinna codale soprannumeraria in *Syngnathus Typhle*, fu accertato per la prima volta sperimentalmente da P. Bert (4) in avannotti di *Salmo fario* e di *Umbrina cirrhosa* quasi appena sgusciati, e assai più tardi da J. Nusbaum e S. Sidoriak (8) che come Bert, di cui ignorarono l'opera, si servirono di giovanissimi avannotti di *Salmo fario*, da Nusbaum (11) in avannotti di *Salmo irideus*, da G. Duncker (18,19) in Singnatidi adulti, da E. Berzolari (26) in *Ammocoetes branchialis*. Similmente dopo Malm più volte vennero osservati in natura fatti rigenerativi, certi o probabili, riguardanti la parte codale del tronco nei pesci (Léger, Barfurth, Hofer, Nusbaum, Boulenger,

(1) Si tratta non del così detto tessuto osteoide ma di tessuto osseo tipico, simile a quello dell'opercolo (cfr. opercolo di tinca, fig. 41 dell'*Abrégé d'Histologie* di Bulliard et Champy, 1922).

Studnička) (1), ma tanto nello studio sperimentale quanto nell'esame del reperto in natura fu insufficiente o più spesso mancò del tutto l'analisi istologica del processo rigenerativo, che nei teleostei venne fatto, per quanto io so, soltanto da Nusbaum e Sidoriak (8) negli avanotti di trota. Perciò mi è parso opportuno estendere le ricerche a qualche altra specie e scelsi, per le ragioni già esposte, l'*Anguilla vulgaris*, allo stadio di ceca.

Tecnica dell'operazione ed esame sul vivo.

Le anguilline prima di essere mutilate della coda subivano l'anestesia con cloretone al 0,75 ‰. L'apice codale amputato, rappresentante per lo più circa $\frac{1}{10}$ della lunghezza totale dell'animale, comprendeva non meno di una quindicina di vertebre.

Quasi nulla si può desumere sull'andamento del processo rigenerativo dalla semplice ispezione esterna, a motivo della opacità dei tessuti. Si può osservare lo sporgere graduale d'una gemma rigenerativa di forma conica che raggiunge però non più di qualche mm. di lunghezza e dalla quale provengono i raggi di sostegno alla parte mediana della pinna codale rigenerata, mentre i raggi del suo lembo dorsale e del ventrale derivano dai mozziconi di raggi preesistenti delle due pinne dorsale e anale, le quali si estendono più o meno lungo il margine posteriore del tronco.

Anche se la mutilazione è ripetuta per la seconda o per la terza volta le ceche rigenerano una nuova pinna codale, che si distingue spesso per una pigmentazione più intensa e perchè i suoi raggi hanno direzione più o meno anomala e specialmente alla base sono più robusti del normale.

Lo studio della rigenerazione dei tessuti venne condotto su sezioni, generalmente sagittali, di materiale fissato in sublimato nitrico-acetico o in Zenker, colorate con ematossilina-eosina.

Rigenerazione della colonna vertebrale.

Assai poco si conosce della rigenerazione della colonna vertebrale nei pesci sia perchè in numerosi casi mancò affatto

(1) cfr. Prziham, 1909.

l'indagine istologica, sia perchè in altri la colonna vertebrale era rappresentata soltanto da elementi cartilaginei (esperienze sui Ciclostomi o su giovanissimi avannotti di Teleostei).

Ricordo che nelle vertebre codali della ceca si conserva ancora evidentissimo alla base dell'arco, specialmente dell'arco inferiore, l'abbozzo cartilagineo (dell'arco stesso) e che le tre vertebre estreme offrono caratteri peculiari. Nella terzultima, che ha corpo assai breve, l'arco emale è completamente cartilagineo e l'emospina è rappresentata da un lunghissimo processo orizzontale al cui apice libero s'inseriscono raggi della codale. Nella penultima vertebra, dal corpo gracile e lungo, le due metà destra e sinistra dell'arco inferiore, tutte cartilaginee, hanno base comune mentre rimangono libere all'apice, un po' dilatato, che parimenti sorregge raggi della codale. L'ultima vertebra ha corpo ancor più gracile della precedente e conico; vi si collegano due pezzi cartilaginei, l'uno più debole quasi sulla continuazione del corpo stesso, l'altro, più robusto, sulla faccia ventrale; ambedue all'estremo libero offrono impianto a raggi della codale (1).

Quanto a struttura l'osso è rappresentato dalla varietà denominata tessuto osteoide da Kölliker, caratterizzata dall'assenza completa o quasi di cellule nella sostanza fondamentale.

Rigenerazione:

Nei primi giorni consecutivi all'amputazione l'esame microscopico non rivela traccia di fenomeni nè regressivi nè rigenerativi. Invece nei preparati del 15° giorno si constata già in corso un processo di riparazione e cioè numerosi elementi del periostio, tanto del corpo di vertebra che degli archi, appaiono differenziati in osteoblasti, nè il fatto rimane circoscritto alla vertebra colpita dal taglio ma interessa anche la penultima e, benchè in grado assai minore, la terzultima vertebra. La superficie di vertebra nel piano della ferita rimane nuda di periostio nè vi si differenziano osteoblasti così che l'accrescimento del tessuto osteoide prodotto dall'attività di questi ultimi non conduce ad un aumento di lunghezza ma

(1) Nello scheletro di pinna codale d'*Anguilla* raffigurato da Whitehouse (21) si vedono tre ossa ipurali, delle quali il medio biforcuto; inoltre le tre ultime vertebre appaiono prive di arco superiore, mentre nei miei preparati la terzultima vertebra presenta arco superiore quasi normale e la penultima arco ridotto a un debole abbozzo cartilagineo.

unicamente ad un aumento di spessore. In certe zone collaborano cogli osteoblasti nel formare nuovo tessuto osteoide cellule connettivali, singolarmente strette e lunghe, così da rassomigliare a fibre. Siffatti elementi si dispongono parallelamente in fasci disseminati di nuclei dai quali si può notare spesso un passaggio graduale al tessuto osteoide. A questi due processi se ne accompagna un terzo di non minore importanza, in una fase però più avanzata dalla rigenerazione (a partire circa dal 45° giorno), vale a dire il differenziarsi dal connettivo, sul prolungamento del corpo dell'ultima vertebra troncata dal taglio, di cartilagine ialina. Questa cartilagine dapprima compare come una calottina regolare che termina il corpo mutilato dell'ultima vertebra, o in parte vi penetra al posto della corda dorsale degenerata, ma più tardi forma alla periferia sporgenze a gobba le quali servono come punti di attacco ai raggi di nuova formazione della pinna codale che nel frattempo si è venuta rigenerando.

Tali apofisi tondeggianti nè per posizione nè per forma corrispondono agli archi, di guisa che l'ultima vertebra viene ad acquistare un contorno capriccioso. A renderla anche più irregolare concorre il nuovo tessuto osteoide, il quale modifica a un tempo più o meno profondamente anche la penultima e la terzultima vertebra. Spesso i loro archi, specialmente gli inferiori, assumono aspetto anomalo; talvolta il corpo della terzultima o anche della penultima vertebra appare fornito di una apofisi surnumeraria; in un preparato di 6 mesi, una massa ingente di tessuto osteoide neoformato collega direttamente l'abbozzo cartilagineo dell'arco emale dell'ultima vertebra coll'omologo (abbozzo) della penultima. In questo momento qua e là nella massa cartilaginea compaiono zone in cui la sostanza fondamentale, anzichè colorarsi in turchino coll'ematosilina, ha assunto la tinta rosa che viene conferita dall'eosina anche alla sostanza osteoide, indizio mi pare della perdita del carattere basofilo e di un processo, ancora all'inizio, di ossificazione della cartilagine. Parmi tuttavia di poter affermare con sufficiente certezza che la rigenerazione della colonna vertebrale è molto incompleta ed eteromorfa ed è strettamente collegata colla rigenerazione della pinna codale, alla quale l'ultima vertebra, singolarmente modificata, viene a costituire una solida base d'appoggio, mentre anche le modificazioni presentate dalle due precedenti, non lese dal taglio, e che si risolvono soprat-

tutto in un loro rafforzamento, hanno mi pare, lo stesso significato di adattamento fisiologico.

Rigenerazione della corda dorsale.

Per effetto del taglio la corda va incontro a una rapida degenerazione; il suo tessuto si disgrega e nelle ampie lacune da esso lasciate penetrano dopo i primi 3-4 giorni elementi epidermici, più tardi cellule del connettivo. Ho ragione di ritenere che queste ultime intervengano attivamente, con fenomeni di fagocitosi, nella distruzione delle parti di corda degenerata (1). Dopo un mese circa, e forse in certi casi più precocemente, mentre è ancora ben manifesto il processo di regressione, compaiono con certezza fatti rigenerativi. Dall'epitelio della corda, che in corrispondenza del corpo di vertebra è a mala pena riconoscibile in condizioni normali, rappresentato com'è da elementi ridotti quasi a un nucleetto appiattito, si differenziano nidi di cellule assai più ricche di citoplasma e con nucleo molto più grosso, veri centri di proliferazione in cui si osservano frequentemente figure mitotiche. Gli elementi di ciascun nido sono imperfettamente delimitati uno verso l'altro da vacuoli minutissimi (visibili con sistemi ad immersione omogena), tra i quali rimangono esilissimi ponti (o lamelle) di citoplasma. Tali elementi, sempre periferici in origine, possono poi migrare nello spessore della corda e da essi indubbiamente provengono le nuove cellule cordali, quantunque io non sia riuscito nella serie dei miei preparati a sorprendere tutte le fasi intermedie della trasformazione. La corda però, malgrado un'attiva neoformazione di elementi, non giunge tutt'al più che ad affiorare al piano del taglio; non può allungarsi al di là perchè non le riesce di superare l'ostacolo rappresentato dalla cartilagine che, come s'è visto, chiude già a quest'ora a guisa di un cappuccio il corpo di vertebra. Un preparato anzi mi ha offerto un esempio interessante di quella gara o lotta fra tessuti diversi del rigenerato su cui richiamò per il primo l'attenzione il Tornier. Si vedono nella preparazione prolungamenti della corda,

(1) Fenomeni simili di fagocitosi vennero recentemente osservati da Naville nella rigenerazione della corda nei batraci anuri. 1924, A. Naville. *Recherches sur l'histogenèse et la régénération chez les Batraciens Anoures (Corde dorsale et téguments)*. Arch. de Biologie XXXIV, f. 2, p. 235-335 (26 fig. nel testo).

simili a stoloni, penetrati dentro la massa cartilaginea e il principale fra essi, impedito evidentemente di allungarsi nella direzione normale di accrescimento della corda, l'assile, appare avvolto su sè stesso a spira. La penetrazione dev'essere certamente avvenuta prima o durante il processo di condricificazione, o perchè la metamorfosi del connettivo in cartilagine sia stata più tardiva, o perchè nella corda il processo di rigenerazione abbia di buon'ora preso il sopravvento sui fattori regressivi.

Rigenerazione del midollo spinale.

A somiglianza della corda anche il midollo per effetto del taglio e del contatto coll'acqua degenera e i fenomeni regressivi dalla superficie di lesione si propagano a parti sempre più prossimali del nevrasso (1). La sostanza nervosa man mano si distrugge e rimane al suo posto un traliccio irregolare di fibre esilissime in cui si vedono disseminati nucleetti picnotici e grani di cromatina intensamente colorati. Si formano anche vere lacune in cui s'infiltrano generalmente elementi sanguigni; in un preparato di 7 giorni vi si vede anche insinuata una piega di epitelio epidermico. Fin quasi dall'inizio dei fenomeni regressivi comincia a manifestarsi quella dilatazione del tratto estremo dal canale centrale che, aumentando progressivamente, gli conferisce più tardi una caratteristica terminazione ad ampolla e rappresenta, pare, un fatto generale, riscontrato anche nei ciclostomi e negli avannotti di salmonidi, per quanto d'interpretazione controversa.

A partire dalla terza settimana, mentre ancora perdurano circoscritti alla cavità ampolliforme del canale centrale processi regressivi, abbiamo segni certi della rigenerazione del midollo. Le fibre nervose, rigenerate dai mozziconi centrali, affiorano o cominciano a sporgere dal canale vertebrale sezionato e nelle cellule dello strato ependimale compaiono, con frequenza sempre maggiore, figure cariocinetiche in cui gli assi dei fusi sono disposti tangenzialmente al canale centrale. Nessuna traccia però di neoformazione di cellule gangliari.

L'esempio più interessante di rigenerazione del midollo mi venne offerto da un preparato di quasi 2 mesi. Vi si nota un

(1) La zona degenerata di midollo raggiunge sul chiudersi della prima settimana la massima ampiezza, circa un $\frac{1}{5}$ di mm.

ricco fascio di fibre nervose rigenerate che sopravanzano di circa 1,5 mm. il piano di sezione della colonna vertebrale, dirigendosi obliquamente in alto nel connettivo della nuova pinna codale, fin quasi a raggiungerne il margine superiore. Il canale centrale, che termina aperto, non occupa l'asse del fascio, ma è spostato dorsalmente e accompagna le fibre rigenerate soltanto per una parte del loro percorso. Particolare notevolissimo, invia un ramo secondario, dal lume più ristretto, che penetra fra le fibre nervose e a sua volta, prima di finire, presenta un accenno di biforcazione (1). Infine, disseminate fra le fibre fin presso all'apice distale del fascio, si osservano cellule ependimali isolate e inoltre cellule simili per aspetto alle cellule gangliari del midollo ma sulla cui natura nervosa per ora non mi pronuncio.

In un preparato più vecchio si osserva la parte estrema del midollo rigenerato ridotta quasi a un tubo di epitelio, rivestito di scarsissime fibre nervose. Pare quindi si delinei una tendenza del processo rigenerativo a riprodurre quelle condizioni che si osservano nell'estremità normale del midollo spinale (2), ma il fatto richiede per poter essere generalizzato l'osservazione di altri esemplari.

LETTERATURA (*)

- (1) 1787. M. Broussonet. Observations sur la régénération de quelques parties du corps des Poissons. *Histoire de l'Acad. Roy. des Sciences (avec les Mém. de Mathém. et de Phys.)*. Année 1786 (Paris, 1788).
- (2) 1819. F. Tiedemann. Beschreibungen einiger seltener Tiermissgeburten. *Deutsch. Arch. f. d. Physiologie (v. Meckel)* V. 125, tb. 11).
- (3) 1862. M. Malm. Note sur la reproduction des parties de l'organisme et sur leur multiplication chez certains animaux et plus particulièrement chez un Syngnathe a deux queues. *Ann. Sc. Nat. (4) Zool.* XVIII, p. 356-358. *Fig.* 1 4.

(1) Uno sdoppiamento del canale centrale venne osservato recentemente negli urodeli (*Molge*) da S. Raposo (1923) *Régénération du s. nerveux caudal chez les Urodèles adultes (Molge)* C. R. Ass. Anat. Lyon, 18, I-II, 4 fig.

(2) Ho verificato nelle sezioni di coda normale di ceca che il midollo spinale finisce con un tubo ependimale.

(*) Delle pubblicazioni contrassegnate coll'asterisco non potei prendere visione nell'originale.

- (4) 1863. P. Bert. Reproduction de l'extrémité caudale enlevée chez des poissons osseux. *C. R. et Mém. Soc. Biol. Année 1863. S. 3, T. 5, p. 100-101.*
- (5) 1869. J. M. Philipeaux. Expériences démontrant que les nageoires des poissons ne se régénèrent qu'à la condition qu'on laisse au moins sur place leur partie basilaire. *C. R. des Séances Acad. d. Sciences. T. 68, p. 669-670.*
- (6) 1890. F. Mazza. Sulla rigenerazione della pinna caudale in alcuni pesci. *Atti della Società Ligustica di Scienze Naturali e Geografiche. Vol. I, p. 318-321, 3 fig. nel testo.*
- (7) 1900. T. H. Morgan. Regeneration in Teleosts. *Arch. Entom. X, p. 120-134 (14 fig. nel testo).*
- (8) 1900. J. Nusbaum u. S. Sidoriak. Beiträge z. Kennt. der Regenerationsvorgänge nach künstl. Verletzungen b. älteren Bachforellenembryonen (*Salmo fario* L.). *Arch. Entom. X, p. 645-684. Tav. XIV-XVI, f. 1-25.*
- (9)* 1901. B. Hofer. *Allgemeine Fischerei-Zeitung. N. I.*
- (10) 1902. T. H. Morgan Further Experiments of the Regeneration of the Tail of Fishes. *Arch. Entom. XIV, p. 539-561, 52 fig. nel testo.*
- (11) 1903. J. Nusbaum. Zur Kenntn. d. Heteromorphose b. d. Regeneration d. älteren Forellenembryonen (*Salmo irideus* W. Gibb.). *Anat. Anz. XXII. p. 358-363, 1 tfig.*
- (12)* 1904. T. H. Morgan. Notes on Regeneration. *Biolog. Bullet. VI. nr. 4, p. 160-172.*
- (13) 1904. E. Souvoroff. Über die Regeneration der Flossen b. d. Knochenfischen. *Travaux de la Société Imper. des Naturalistes de St-Petersbourg. Section de Zoologie et de Physiologie. Vol. XXXIII. Livr. 4, p. 1-19 (testo russo, con fig. 1-5, tav. con fig. 6-12) Riassunto in tedesco, p. 79-81.*
- (14) 1906. T. H. Morgan The Physiology of Regeneration. *Journ Exper. Zoology. III. 474-485; 492-500. 7 tfig.*
- (15) 1906. K. Bogacki. Experimentelle Flossenregeneration b. europäischen Süßwasserfischen. *Arch. Entom. XXII. p. 18-20 T. III. f. 1-7.*
- (16)* 1906. C. V. Morrill jun. Regeneration of certain structures in *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull. XII. nr. 1, p. 11-20.*
- (17)* 1906. G. G. Scott. Further Notes on the Regeneration of the Fins of *Fundulus heteroclitus*. *Biol. Bull. XII. p. 385-400.*
- (18) 1906. G. Duncker. Über Regeneration d. Schwanzendes b. Syngnathiden. *Arch. Entom. XX. p. 30-37. T. 1, f. 1-6.*
- (19) 1907. G. Duncker. Über Regeneration d. Schwanzendes b. Syngnathiden (*zweite Mitteilung*). *Arch. Entom. XXIV, p. 656-661. T. XXVIII. f. 1-7 e 2 fig. nel testo.*

- (20) 1910. C. Beigel. Zur Regeneration d. Kiemendeckels u. d. Flossen d. Teleostier. *Bull. Internat. Acad. d. Sciences de Cracovie (Cl. Sc. Mathem. et Nat. Ser. B) N. 7, p. 655-690. Pl. XXIV-XXVI.*
- (21) 1910. R. H. Whitehouse. The Caudal Fin of the Teleostomi. *Proceed. of the zoolog. Society of London, p. 590-627, Tav. XLVII, XLVIII, XLIX.*
- (22)* 1911. C. Beigel. Beitrag z. Regeneration d. Haut bei Knochenfischen. *Festschrift f. J. Nusbaum, Lemberg 1911. — Recensione di Nusbaum in Arch. Entw. XXXIV, p. 547-548.*
- (23) 1911. W. Scott. The regenerated scales of *Fundulus heteroclitus* L. with a preliminary note on their formation. *Proc. Indiana Acad. Sc. 1911, p. 439-444, 3 fig.*
- (24) 1912. Osw. Polimanti. Contributi alla fisiologia del sistema nervoso centrale e del movimento dei pesci. III. Teleostei. *Zoolog. Jahrb. (Abt. allg. Zool. u. Physiol.) XXXII, p. 367-584, con tav. 14-15 e 20 fig. nel testo. (breve cenno sulla rigenerazione delle pinne a p. 419).*
- (25) 1912. C. Beigel. Regeneration der Barteln bei Siluroiden. *Arch. Entw. XXXIV, p. 363-369, tav. XIV, fig. 1-17.*
- (26) 1918. E. Berzolari. Sul potere rigenerativo della parte posteriore dell' *Ammocoetes branchiales* (7 fig. e 1 tav.). *Estratto dal Bull. Istit. Zool. R. Università di Palermo, vol. I, fasc. 1-2-3.*
- (27) 1918. F. Supino. Note ittiologiche. *Natura IX, fasc. maggio-agosto, p. 143-156 (8 fig. nel testo).*
- (28) 1921. P. Lo Giudice. Sulle espansioni nervose negli organi ciati-formi dei barbigli del Barbo (*B. plébejus* V.). *Arch. Zool. X, p. 35-52, tav. IV e V.*
- (29) 1925. G. Fadda. Sulla rigenerazione delle pinne di *Cyprinodon calaritanus* C. V. *R. Comitato Talassografico Italiano. Memoria CXIX, p. 1-13.*
-